

Title	Green light emitting diodes accelerate wound healing : Characterization of the effect and its molecular basis in vitro and in vivo
Author(s)	伏見, 知浩
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59057">https://hdl.handle.net/11094/59057</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">こちら</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	伏 見 知 浩
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 5 1 4 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 3 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Green light emitting diodes accelerate wound healing: Characterization of the effect and its molecular basis in vitro and in vivo (緑色 LED の創傷治癒促進効果とその作用機序に対する分子生物学的考察)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 細 川 互 (副査) 教 授 片 山 一 朗 教 授 矢 野 健 二

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔 目 的 〕

1990年代にNASA（アメリカ宇宙開発局）においてLED照射による植物の成長促進が確認されて以来、LEDの生体に対する影響に関して数多くの研究がなされており、LED照射による線維芽細胞のコラーゲン、ヒアルロン酸生成 の増加、増殖能亢進等の報告も散見される。 さらに創傷治癒に関して、LEDによる創傷の早期治癒などの効果が報告されているが、そのほとんどは赤色LEDの効果を示したものであり、それ以外の波長に関してはほとんど報告がなく、また作用機序を分子生物学的に解析した報告も不十分である。 今回、我々は3波長のLEDを用いてその創傷治癒に対する効果をin vivoで検証するとともに、in vitroでは創傷治癒に重要な役割を果たす線維芽細胞、 角化細胞に注目し、LED照射による線維芽細胞から産生されるサイトカインの発現量の変化、角化細胞の遊走能への影響を解析することで、創傷治癒に対するLEDの効果、作用機序を検討した。

### 〔 方法ならびに成績 〕

ob/obマウスの背部に皮膚欠損創を作製し、1日おきにLED（青色：456±5nm、緑色：518±4nm、赤色：638±5nm）を20分間照射（0.3J/cm<sup>2</sup>）し、欠損創の面積を測定したところ、7日目に緑色LED照射群で優位に創面積の縮小を認め、上皮下完了までの日数は赤色、緑色LED照射群で11日と青色LED照射群、コントロール群、13日に比して短かった。

次にIn vitroにおいて、線維芽細胞、角化細胞に対するLEDの影響について調べた。最初に正常ヒト線維芽細胞にLEDを20分間照射（青色：0.3J/cm<sup>2</sup>、緑色：0.2J/cm<sup>2</sup>、赤色：0.6J/cm<sup>2</sup>）し、各種細胞増殖因子、炎症性サイトカインのmRNAの経時的な発現量の変化をRT-PCR法にて検討した。変化を認めた分子については、LEDを1日目、2日目、3日目に同様に照射し、4日目に培養液を回収、ELISA法による蛋白定量を行った。結果は、HGF、KGFはLED照射群のすべてでコントロール群に比して有意に蛋白濃度の上昇を認めた。一方、VEGF、Leptin、IL-8では緑色LEDの照射で特異的に蛋白量の有意な上昇が確認できた。次にHaCat角化細胞にLEDを照射し、migration assay法により、角化細胞の遊走能について評価したところ、照射後24時間の遊走能が赤色、緑色LED照射群で亢進していた。さらに、角化細胞が放出する、遊走に影響を与えるサイトカインに関して、赤色、緑色LED照射群について線維芽細胞と同様にRT-PCR、ELISA法を用いて調べたところ、HB-EGF、VEGFに関して緑色LED照射群でコントロール群に比べ、有意に蛋白量の上昇が確認できた。

#### 〔 総 括 〕

In vivoにおいて、以前より報告されていた赤色LEDだけでなく、緑色LED照射においても有意な創傷治癒促進効果を認めた。その要因として、赤色、緑色LED照射による線維芽細胞からのサイトカイン放出量の増加、角化細胞における遊走能の亢進が考えられた。また、いくつかのサイトカインに関しては、緑色LED照射で特異的に上昇した。緑色LEDは赤色LEDとは一部異なる作用機序で創傷治癒を促進させる可能性があり、LEDが創傷治癒に対するより有効な治療手段となり得る。

#### 論文審査の結果の要旨

近年、新しい光線療法として安全性が高いLEDが注目されており、赤色LED照射による創傷治癒促進などの臨床効果についての報告も散見される。しかし、その作用機所は十分に解明されておらず、赤色以外の創傷治癒に対する効果も検討されていない。この論文では3波長のLED（青色：456nm、緑色：518nm、赤色：638nm）を用いて、その創傷治癒に対する効果、作用機序について検討された。In vivoで、ob/obマウス背部皮膚欠損創の面積は緑色LED照射群で優位に縮小を認め、In vitroでは創傷治癒の過程で線維芽細胞が放出するサイトカインに関して、LED照射による蛋白濃度の優位な上昇が認められ、特にVEGF、Leptin、IL-8は緑色LED照射に特異的であった。また、表皮細胞の遊走能に関しても赤色、緑色LED照射群で亢進しており、遊走に関連する表皮細胞が放出するサイトカイン濃度も緑色LED照射により上昇していた。この論文は緑色LED照射による創傷治癒促進を示した最初の報告であり、その要因として線維芽細胞によるサイトカイン放出量の増加、表皮細胞の遊走能亢進が示唆された。この論文により、LEDが創傷治療に対する新しい戦略の1つとなる可能性が見出されており、学位の授与に値すると考えられる。